

Test de sensibilité de variétés clonales d'hévéa aux toxines secrétées par le champignon *Corynespora cassiicola*

Marine Déon^{1,2}, Dinh Minh Tran^{1,3,6}, André Clément-Demange³, Daniel Bieysse³, Ricardo R Oliveira⁴, Frédéric Breton³, Stéphanie Massey², Frédéric de Lamotte⁵, Anne Clément-Vidal³, Marc Seguin³, Valérie Pujade-Renaud^{1,2}. Contact: dminhrriv@gmail.com
Valerie.Pujade-renaud@cirad.fr

1. CIRAD, UMR-AGAP, F-63000 Clermont-Ferrand, France.
2. Clermont-Université, Université Blaise Pascal, UMR 547 PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France
3. CIRAD, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France.
4. Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia, Maringá, Pr: CEP 8702-900, Brazil
5. INRA, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France.
6. Rubber Research Institute of Vietnam

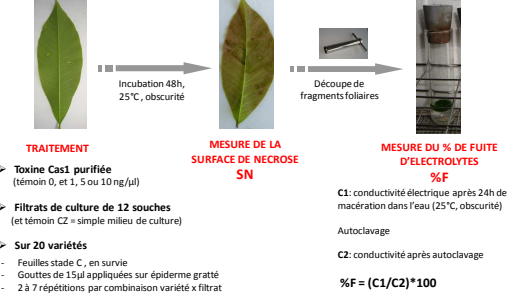
Introduction

- *Hevea brasiliensis* est la seule source commerciale de caoutchouc naturel, agro-matériau utilisé principalement (70 %) dans l'industrie du pneumatique. L'hévéa est sensible à une maladie foliaire due au champignon *Corynespora cassiicola*. Ce champignon sécrète une toxine protéique, la cassicoline, dont six isoformes ont été identifiées^{1,2,3}. L'isoforme Cas1, issue d'une souche très agressive (CCP), jouerait un rôle important en tant qu'effecteur de la maladie^{4,5,6}.

- Dans un objectif de sélection précoce, une méthode d'évaluation de la sensibilité des variétés à cette maladie a été mise au point, par application sur folioles détachées de la toxine Cas1 purifiée ou de filtrats de culture de différentes souches du champignon.



Matériel et méthode



I. Comparaison de %F (% de fuite d'électrolytes) et SN (surface de nécrose)

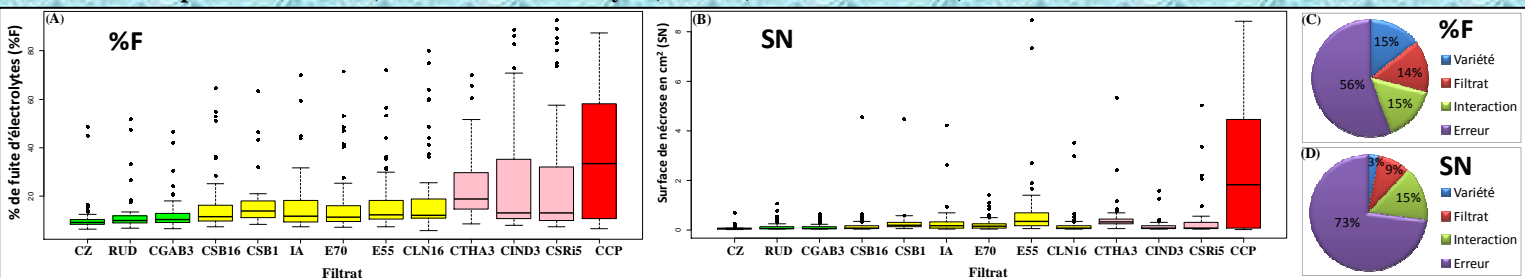


Figure 1: Données du % de fuite d'électrolytes (%F) et de surface de nécrose (SN) mesurés pour 12 filtrats de *Corynespora cassiicola* sur 20 variétés d'hévéa.

(A) et (B) distribution des données %F et SN par filtrat; (C) et (D) composantes de la variance (%) de %F et SN, témoin CZ (milieu de culture non inoculé) inclus.

Résultat I:

- La méthode %F est plus sensible que SN pour tester la sensibilité des variétés aux filtrats de *C. cassiicola* avec un effet variétal plus marqué et une variance résiduelle plus faible.
- Pour %F, les moyennes par filtrat montrent des différences importantes, mais la distribution des données ne suit pas la loi normale. Un grand nombre de répétitions est nécessaire pour réduire la variance de l'erreur.

II. Sensibilité à la toxine purifiée Cas1, à son filtrat d'origine CCP et aux filtrats de culture de différentes souches

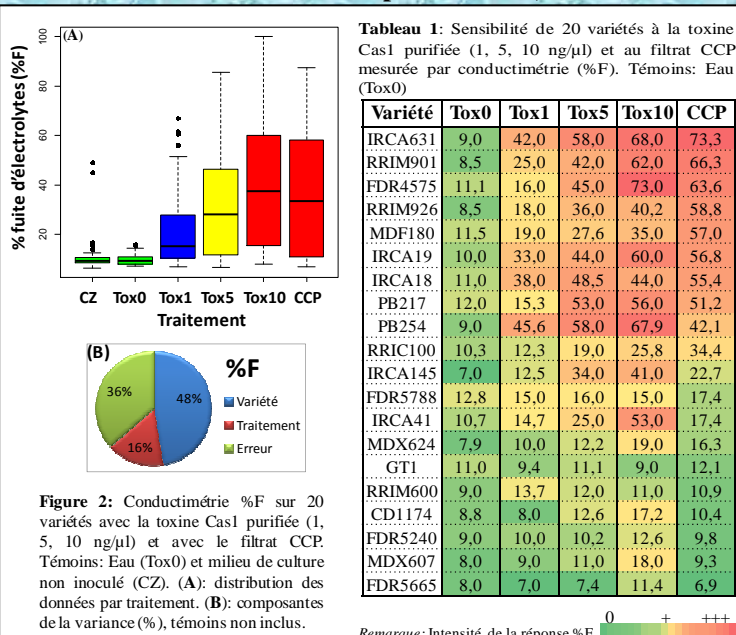


Figure 2: Conductimétrie %F sur 20 variétés avec la toxine Cas1 purifiée (1, 5, 10 ng/μl) et avec le filtrat CCP. Témoins: Eau (Tox0) et milieu de culture non inoculé (CZ). (A): distribution des données par traitement. (B): composantes de la variance (%), témoins non inclus.

Tableau 1: Sensibilité de 20 variétés à la toxine Cas1 purifiée (1, 5, 10 ng/μl) et au filtrat CCP mesurée par conductimétrie (%F). Témoins: Eau (Tox0)

Variété	Tox0	Tox1	Tox5	Tox10	CCP
IRCA631	9,0	42,0	58,0	68,0	73,3
RRIM901	8,5	25,0	42,0	62,0	66,3
FDR4575	11,1	16,0	45,0	73,0	63,6
RRIM926	8,5	18,0	36,0	40,2	58,8
MDFI80	11,5	19,0	27,6	35,0	57,0
IRCA19	10,0	33,0	44,0	60,0	56,8
IRCA18	11,0	38,0	48,5	44,0	55,4
PB217	12,0	15,3	53,0	56,0	51,2
PB254	9,0	45,6	58,0	67,9	42,1
RRIC100	10,3	12,3	19,0	25,8	34,4
IRCA145	7,0	12,5	34,0	41,0	22,7
FDR5788	12,8	15,0	16,0	15,0	17,4
IRCA41	10,7	14,7	25,0	53,0	17,4
MDX624	7,9	10,0	12,2	19,0	16,3
GT1	11,0	9,4	11,1	9,0	12,1
RRIM600	9,0	13,7	12,0	11,0	10,9
CD1174	8,8	8,0	12,6	17,2	10,4
FDR5240	9,0	10,0	10,2	12,6	9,8
MDX607	8,0	9,0	11,0	18,0	9,3
FDR5665	8,0	7,0	7,4	11,4	6,9

Remarque: Intensité de la réponse %F

Résultat II:

- L'intensité de la réponse augmente avec la concentration de la toxine, sans effet d'interaction variété x traitement. La variance entre variétés est importante.
- Les profils de sensibilité de variétés en réponse à la toxine Cas1 purifiée ou au filtrat CCP sont similaires.
Ces résultats renforcent l'hypothèse que Cas1 serait le déterminant majeur de la toxicité du filtrat CCP.

Bilan et perspectives

- Le test toxinique est un outil important pour l'étude de la relation entre les variétés d'hévéa et *Corynespora cassiicola*, dans une perspective de sélection précoce des variétés. La toxine Cas1 serait bien un déterminant majeur de la pathogénicité de la souche CCP.
- La mise en évidence d'une interaction importante entre les variétés et différents filtrats montre la nécessité de prendre en compte la diversité du champignon.
- Il convient de poursuivre la recherche méthodologique pour mieux contrôler les facteurs de variabilité des mesures.

Remerciements:

Nous remercions l'Institut Français du Caoutchouc et les sociétés SIPH, SOCFIN et MICHELIN pour leur support opérationnel et leur participation financière à ces recherches.

Figure 3: Plan 1-2 d'une ACP montrant la variabilité des relations variété x filtrat pour 12 filtrats sur 20 variétés.

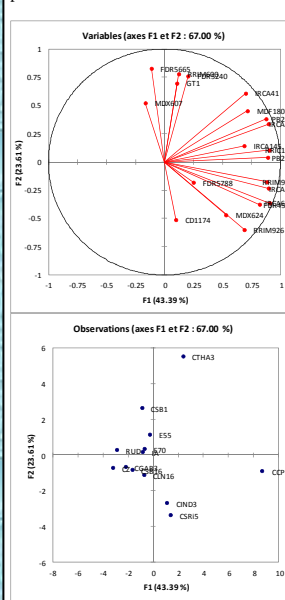


Tableau 2: Sensibilité des 20 variétés aux 4 filtrats les plus toxiques. Témoin: CZ (milieu de culture non inoculé). Analyse par conductimétrie (%F).

Variété/Souche	CZ	CSR15	CIND3	CTHA3	CCP
Groupe génétique		A4	A4	F1	C
Classe toxique	cas0	cas0	cas0	cas1	
IRCA631	9,5	39,1	37,5	19,9	73,3
RRIM901	14,5	47,6	32,6	37,7	66,3
FDR4575	17,3	55,9	57,3	38,9	63,6
RRIM926	9,8	46,8	53,3	13,0	58,8
MDFI80	19,2	12,3	22,1	37,8	57,0
IRCA19	9,8	11,6	10,8	36,4	56,8
IRCA18	9,5	25,0	30,2	16,2	55,4
PB217	8,8	14,6	11,2	17,8	51,2
PB254	9,0	10,3	11,1	30,8	42,1
RRIC100	8,7	11,4	13,3	16,6	34,4
IRCA145	9,5	22,6	10,6	20,1	22,7
FDR5788	9,0	47,0	48,9	41,9	17,4
IRCA41	9,2	11,2	10,6	19,8	17,4
MDX624	8,7	18,0	23,2	13,4	16,3
GT1	13,3	13,5	32,8	50,4	12,1
RRIM600	9,9	13,0	11,4	22,4	10,9
CD1174	8,8	36,8	23,3	15,0	10,4
FDR5240	9,6	9,4	10,3	25,1	9,8
MDX607	7,7	9,8	12,3	23,3	9,3
FDR5665	8,5	8,0	8,7	13,8	6,9

Remarque: Intensité de la réponse %F

Résultat III:

- Un effet d'interaction variété x filtrat est mis en évidence (fig. 1C, tab. 2 et fig. 3).
- La souche CCP (classe toxique Cas1) génère le filtrat le plus toxique
- La toxicité des filtrats Cas0 sur certaines variétés suggère l'existence d'autres effecteurs que la cassicoline.

Références

- Déon M et al., 2012a. Characterization of a cassicolin-encoding gene from *Corynespora cassiicola*, pathogen of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Plant Science* 185-186, 227-237.
- Déon M et al., 2012b. First characterization of endophytic *Corynespora cassiicola* isolates with variant cassicolin genes recovered from rubber trees in Brazil. *Fungal Diversity* 54, 87-99.
- Déon M et al., 2013. Diversity of the cassicolin gene in *Corynespora cassiicola* and relation with the pathogenicity in *Hevea brasiliensis*. *Fungal Biology*. doi:10.1016/j.funbio.2013.10.011.
- Breton et al., 2000. Role of cassicolin, a host-selective toxin, in pathogenicity of *Corynespora cassiicola*, causal agent of a leaf fall disease of *Hevea*. *J Rubber Res* 3(2)/115-128.
- de Lamotte F et al., 2007. Purification and characterization of cassicolin, the toxin produced by *Corynespora cassiicola*, causal agent of the leaf fall disease of rubber tree. *J Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 849, 357-362.
- Barthe P et al., 2007. Structural analysis of cassicolin, a host-selective protein toxin from *Corynespora cassiicola*. *J. Mol. Biol.*